
哺乳類の多能性幹細胞における機能性遺伝子の ネットワークとその多様性を解析

- 多能性幹細胞にとって重要な遺伝子とそのネットワークが、哺乳類の中でどう進化しているのかを探索しました。
- 多能性幹細胞の種間多様性は、種の生体機能の発達と関連する可能性が示されました。
- 今後、絶滅危惧種など多くの哺乳類の iPS 細胞作成法開発に貢献することが期待されます。

京都大学アイセムス（高等研究院 物質－細胞統合システム拠点）の亀井謙一郎（かめい・けんいちろう）准教授と、同大学野生動物研究センターの村山美穂（むらやま・みほ）教授、遠藤良典（えんどう・よしのり）大学院生らの研究グループは、iPS 細胞^{*1}など多能性幹細胞^{*2}の未分化維持^{*3}に働く遺伝子たちの遺伝的多様性とその機能について、哺乳類において解析することに成功しました。この研究により、多能性幹細胞技術が、絶滅危惧種など、多くの哺乳類に発展していくことが期待されます。

iPS 細胞の誕生により、個体実験や生体試料の取得が難しい野生動物からも多能性幹細胞を作成することが可能となりました。山中教授が発見した初期化因子^{*4}は他の動物種にも有効なことが示されていますが、一方で、動物種によって必要な因子が異なることも報告されており、その原因やメカニズムは不明でした。これまでの研究は、ヒトやマウスなどの実験動物を中心としたものであり、他の動物種の情報が非常に限られていました。

そこで今回の研究では、多能性幹細胞を制御する遺伝子ネットワークに着目しました。細胞内では、数多くの遺伝子がそれぞれ影響するネットワークを形成し細胞の機能を制御していますが、それは組織や動物種によって異なります。また、遺伝子の配列も動物種によって異なります。そこで本研究では、多能性幹細胞に重要な遺伝子とそのネットワークをほぼ全ての哺乳類を対象に比較解析することで、哺乳類の間で進化的に「保存^{*5}」されている経路、「多様化^{*6}」している経路を特定することに成功しました。さらに、多様化している遺伝子を調べたところ、種固有の適応進化との関連が見えてきました。

本研究で得られた成果は、それぞれの動物種に適した iPS 細胞技術の開発に応用できるだけでなく、個体を用いて研究することが難しかった動物の生理機構や初期発生メカニズムの解明などに役立つことができます。また、iPS 細胞は動物種の保存にも重要な位置づけとなります。

本成果は、2020 年 8 月 11 日に英科学誌「Genome Biology and Evolution」にオンラインで公開されました。

1. 背景

多能性幹細胞は、他の細胞に分化できる分化能と、ほぼ無限に増殖できる自己複製能を持ちます。2006年に山中教授が発見したマウス iPS 細胞の誕生により、様々な動物種から多能性幹細胞を獲得することが可能になりました。個体実験や生体試料の取得が難しい希少動物の、新たな保全・実験試料として大きな期待が寄せられています。

しかし、マウスやヒトで開発された iPS 細胞技術を、そのまま他の動物に応用することは困難です。山中教授が特定した4つの初期化因子 (Oct4, Klf4, Sox2, c-Myc ; 図1) を使ってゴリラなど他の動物の細胞からも iPS 細胞を作製できることが報告されていますが、動物種によって必要な初期化因子が異なることが近年明らかになってきました。また、作成された iPS 細胞の培養条件も動物種によって異なり、つまり iPS 細胞を未分化維持する条件やその維持機構が異なることが示唆されています。これまでの研究はヒトやマウスなどの実験動物が中心であり、他の動物についてはほとんど明らかになっていないのが現状です。

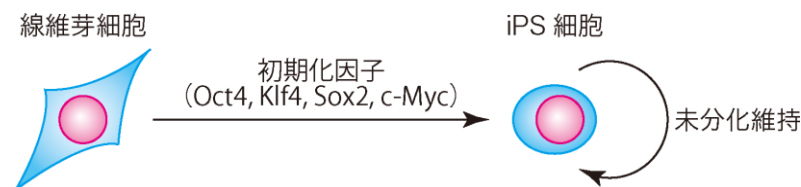


図1 線維芽細胞などの体細胞からの iPS 細胞の作成に必要な初期化因子と iPS 細胞の未分化維持の概念図

多能性幹細胞を含む全ての細胞では、数多くの遺伝子が複雑に、かつ厳密に影響し合うネットワークが形成され、それによって細胞の機能などが制御されています。その一方で、動物種によって遺伝子の配列は若干異なり、かつネットワークも異なります。これが生物の多様性に繋がっています。遺伝子やネットワークを動物種間で比較することにより、どの遺伝子が進化の過程で保存されているか、どの遺伝子が動物種で固有の進化を遂げているのかを調べることができます。近年のゲノム技術の発達により、多くの動物種のゲノム情報がデータベースに公開されており、誰でも自由にアクセスすることができます。このデータベースを活用することにより、哺乳類の多能性幹細胞を制御する遺伝子とそのネットワークがどのように進化しているのかを探索することが可能となります。

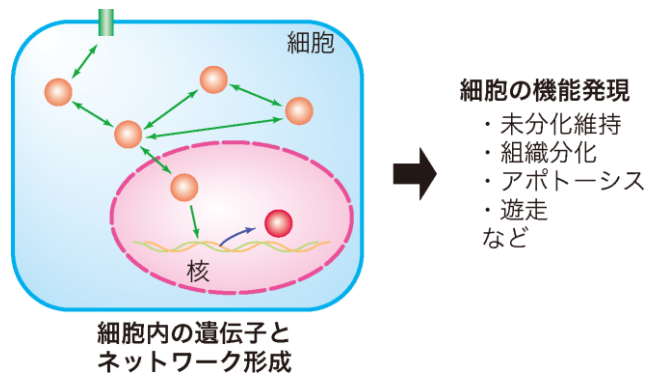


図2 細胞内における遺伝子とそのネットワーク形成による機能発現制御の概念図

2. 研究内容と成果

本研究では、多能性幹細胞の未分化維持に関連する遺伝子とそのネットワークを構成する138の遺伝子配列を、系統を網羅した61の哺乳類種から集め、進化的な保存・多様化を調べることで、その進化の解明に取り組みました。

その結果、多能性幹細胞の未分化維持や初期化において重要な役割を果たすコア遺伝子（Oct4, Nanog, Sox2）は哺乳類全体で保存されていることが確認されました（図3）。その一方で、コア遺伝子により活性化されるネットワークが、他に比べて有意に多様化していることが示されました。このネットワークを構成する遺伝子たちを解析したところ、8つの遺伝子で多様化が促進された証拠を発見することができました。これまでに報告されている哺乳類由来の多能性幹細胞の種間多様性との関連が見られました。例えば、JAK-STATやPI3Kシグナルネットワークは多能性幹細胞の維持や増殖に重要であり、本研究でもその保存が確認できましたが、一方でWNTシグナルネットワークは、多能性幹細胞の維持に重要ではあるものの、その多様性が確認できました。この多様性が、これまでに作成された哺乳類由来多能性幹細胞の性質の違いに関連していると考えられます。

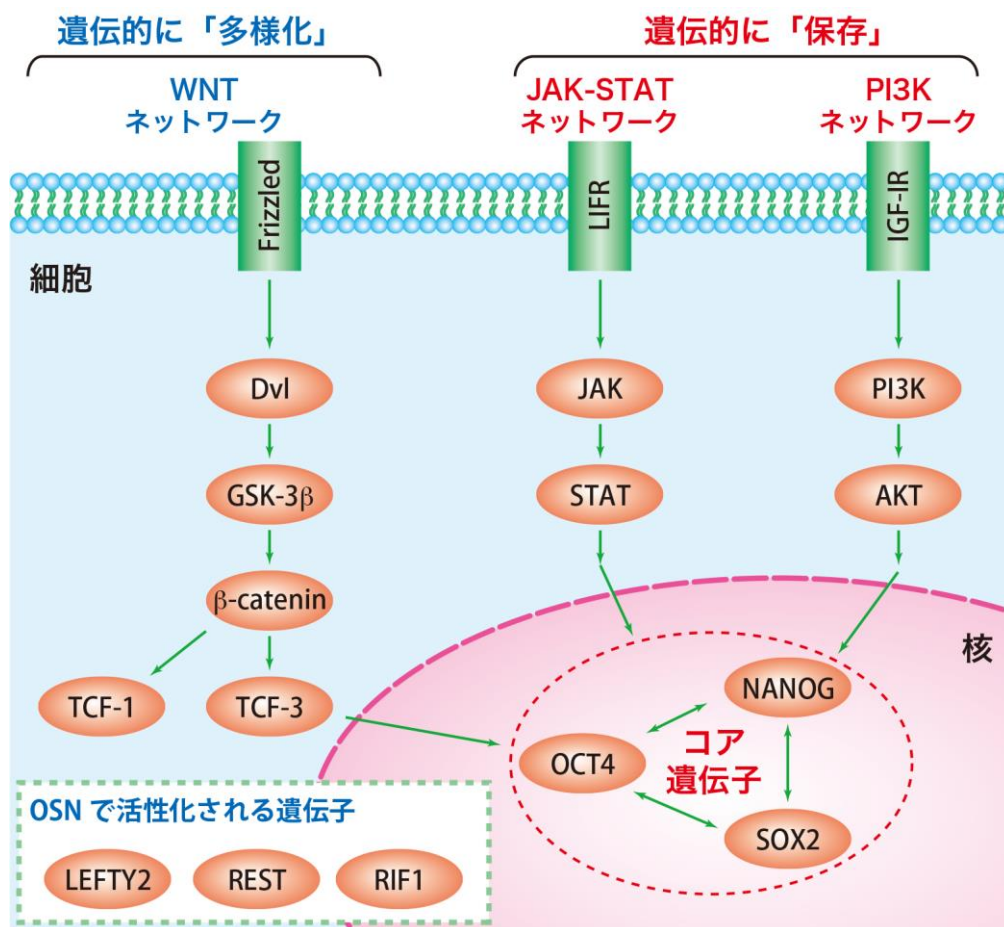


図3 本研究で同定した、遺伝的に「保存」、及び「多様化」された遺伝子とそのネットワークの代表例。OSNはコア遺伝子のOCT4、SOX2、NANOGの略。

さらに、いくつかの遺伝子では幹細胞だけではなく種特有の生体機能との関連を持つものが見られました。例えば、胎盤の形成に働くESRRBという遺伝子は、真獣類の多能性幹細胞では発現していますが、カモノハシや有袋類のiPS細胞では発現しないことが報告されています。私たちの解析結果は、このESRRBを制御するTCF3遺伝子が、真獣類の共通祖先から多様化が促進されていたことが示されました。

今回の研究により、哺乳類由来の多能性幹細胞が示す多様性の原因の一端を解き明かすことができ、種特有の生体機能的進化における遺伝的変異が、多能性幹細胞の性質の違いを引き起こしている可能性が示されました。

3. 今後の展開

本研究の成果は、様々な動物種由来の多能性幹細胞の培養条件の最適化、またiPS細胞作成法の最適化への応用が期待されます。これにより、iPS細胞を絶滅危惧種から作製する研究がより進展することが期待されます。

本研究では、遺伝子配列からその進化を探索しましたが、多能性幹細胞ではエピジェネティックな動態が重要な役割を果たしていることが示されています。今後は遺伝子発現の種間比較を行い、配列と発現の両面から多能性幹細胞の多様性の理解を深め、多能性幹細胞のメカニズムの解明への取り組みを進めています。

4. 用語解説

- ※1 iPS細胞：人工多能性幹細胞（induced pluripotent stem cell）の略。生体外におけるほぼ無限の自己複製能と、身体中の様々な組織細胞へと分化が可能な性質を持っている。そのため、ヒトにおいては再生医療や創薬への実用化が期待されているが、野生動物種では、種の保存の新しい生体材料として期待されている。ヒトiPS細胞は、本学山中教授、iPS細胞研究所所長によって開発され、その誘導機構の発見から、2012年にジョン・ガードン ケンブリッジ大学名誉教授と共にノーベル賞が授与された。
- ※2 多能性幹細胞：生体外におけるほぼ無限の自己複製能と、様々な組織細胞へと分化が可能な、特徴的な性質も持っており、iPS細胞や胚性幹細胞（ES細胞）などが代表的な細胞である。
- ※3 未分化維持：多能性幹細胞は身体中の様々な組織細胞に分化可能であるが、必要なときまで、自身の性質を保つ必要があり、それが未分化維持である。
- ※4 初期化因子：リプログラミング因子ともいい、iPS細胞を作成する際に体細胞に導入する遺伝子群のことである。山中教授が2006年にマウスiPS細胞作成に用いた遺伝子は、Oct4, Klf4, Sox2, c-Mycの4種であったが、近年、動物種によって必要な因子が異なることが明らかになってきた。
- ※5 遺伝子の「保存」（保存配列）：多くの動物種にまたがって保存されている遺伝子配列のことで、進化・自然選択の過程でも保存されてきた配列。高度に保存された配列は、生物の生存に必須のタンパク質をコードする遺伝子である。
- ※6 遺伝子の「多様化」：遺伝的多様性のことであり、保存配列とは異なり、環境の変化などに応じて突然変異の蓄積によって生じる多様性。

5. 研究プロジェクトについて

本研究は、日本学術振興会 科学研究費補助金（基盤研究(B) 代表 村山 美穂 17H03624；基盤研究(A) 代表 村山 美穂 20H00420；基盤研究(B) 代表 亀井 謙一郎 17H02083）の支援を受けて行われました。

6. 論文タイトル・著者

“Genetic signatures of evolution of the pluripotency gene regulating network across mammals”

（参考訳：哺乳類における多能性制御遺伝子ネットワークの進化の遺伝的な痕跡）

著者：Yoshinori Endo,¹ Ken-ichiro Kamei,^{2*} Miho Inoue-Murayama^{1,2,3*}

Genome Biology and Evolution | DOI: [10.1093/gbe/evaa169](https://doi.org/10.1093/gbe/evaa169)

¹京都大学野生動物研究センター

²京都大学アイセムス

³国立環境研究所野生動物ゲノム連携研究グループ

*は本研究全般に関する責任著者